



①⑨ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Off nl gungsschrift**  
⑩ **DE 100 03 824 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**C 04 B 35/00**  
A 61 L 27/56  
A 61 L 27/12

⑦① Aktenzeichen: 100 03 824.7  
⑦② Anmeldetag: 28. 1. 2000  
⑦③ Offenlegungstag: 23. 8. 2001

DE 100 03 824 A 1

⑦① Anmelder:  
DOT GmbH, 18059 Rostock, DE

⑦④ Vertreter:  
Schnick und Kollegen, 18057 Rostock

⑦② Erfinder:  
Gerber, Thomas, Prof. Dr., 18059 Papendorf, DE

⑤⑧ Entgegenhaltungen:  
DE 198 25 419 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Verfahren zur Herstellung von Knochenersatzmaterial

⑤⑦ Die Poren in Knochenersatzmaterialien, die der trabekularen Struktur des Knochens entsprechen, werden bisher durch die Wahl der Ausgangsmaterialien, wie z. B. Rinderknochen, die dann aufwendig aufgearbeitet werden müssen, oder durch Aufschäumen des Materials oder durch Herauslösen zusätzlich eingebrachter Komponenten erzeugt.

Das neue Verfahren stellt demgegenüber eine einfache Methode dar, um aus einer hochviskosen Ausgangssuspension Fäden in einem Bereich von 50 µm bis 1000 µm Durchmesser zu erzeugen, die durch die Packung in einer Form ein offenes Porensystem ergeben, wobei der Porendurchmesser im Bereich des Fadendurchmessers liegt und eine Porosität von 70 bis 30% erreicht wird.

Als Ausgangsmaterial wird eine Suspension eines Sols und eines Gemisches aus Kalziumphosphaten genutzt, deren Viskosität durch den einsetzenden Gelbildungsprozeß sich langsam erhöht. Wird diese Suspension durch eine Düse oder ein Düsensystem gedrückt, entstehend stabile Fäden, die sich aufgrund des noch nicht abgeschlossenen Gelbildungsprozeß an den Berührungspunkten verbinden und damit einen hochporösen Formkörper ergeben, der weiter verarbeitet wird.

Herstellung von Knochenersatz.

DE 100 03 824 A 1

## Beschreibung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von Porenstrukturen in einem durch Sol-Gel-Prozesse hergestellten Material, das als Knochenersatz zur Ausfüllung von Knochendefekten, die durch Knochenkarzinom, Unfälle o. ä. entstanden sind bzw. die angeboren sind, dient.

Durch die Poren, deren Größe von 50 µm bis einige 1000 µm reicht, also in einem wesentlich größerem Bereich als die durch den Sol-Gel-Prozeß hergestellten Poren liegt (Patent De 198 25 419 A1), ist ein schnelles Einwachsen von Gewebe und insbesondere von Blutgefäßen möglich. Eine Resorption des Materials ist damit schneller gewährleistet.

In der Patentliteratur eine Vielzahl von porösen Keramiken als Knochenersatz beschrieben. In U.S. Patent 5,133,756; 1992 wird die Keramik aus Rinderknochen hergestellt. Die gesamte organische Matrix wird entfernt und der keramische Anteil wird bei Temperaturen von 1100°C bis 1500°C getempert.

Ein anderes Verfahren (U.S. Patent 4 861 733; 1989) geht vom Gerüst natürlicher Korallen aus und wandelt das Kalziumcarbonat in einem hydrothermalen Prozeß in Kalziumphosphat um. Der Vorteil dieser Verfahren ist, daß die Porenstruktur (Größenverteilung, Morphologie) ideal zum Einwachsen des Knochengewebes ist.

Der entscheidende Nachteil dieser Keramiken ist, daß sie nicht resorbierbar sind. Gebildeter Knochen unterliegt einem ständigen Umbau, auch als Remodeling bezeichnet, wobei Osteoklasten den Knochen abbauen und die Osteoblasten ihn wieder aufbauen. Für die beschriebenen Materialien bedeutet das, daß das Knochengewebe zwar ausgezeichnet in die Porenstruktur hinein wächst. Der hochkristalline Hydroxylapatit der Keramik ist jedoch nicht am Knochenremodeling beteiligt. Es bleibt daher ein Fremdkörper und beeinflusst die mechanischen Eigenschaften. Insbesondere beim Knochenwachstum kommt es zu Entzündungen im Übergang vom Gewebe zur Keramik.

Poröses Hydroxylapatit bzw. poröse, auf Hydroxylapatit basierende Keramiken sind eigentlich ein idealer Knochenersatz, da sie durch eine spezielle Oberflächencharakteristik osteoinduktiv sein können. Das bedeutet, daß diese Materialien eine Knochenbildung induzieren können, wenn sie unter die Haut oder in Muskelgewebe implantiert werden, auch wenn keine osteoinduktiven Proteine eingebaut sind. Diese Eigenschaft wird besonders erreicht, wenn die Keramik ein Gemisch von Hydroxylapatit und resorbierbaren Kalziumphosphaten ist. U.S. Patent 4654614; 1987 gibt einen weiten Zusammensetzungsbereich mit 10 bis 90 Gew.-% Hydroxylapatit und 90% bis 10% resorbierbarem Kalziumphosphat an. Als resorbierbares Kalziumphosphat wird  $\beta$ -Trikalziumphosphat verwendet.

Auch bei dieser Keramik wird eine Porenstruktur im Bereich von 300 bis 700 µm bevorzugt. Um die günstige Porenstruktur in der Keramik zu erzeugen, wird ein Verfahren angewandt, das durch Aufschäumen von Eiweiß, anschließend Mischen mit keramischem Pulver (Hydroxylapatit-Trikalziumphosphat Gemisch) und einer Temperaturbehandlung, die ein Härten des Eiweißes und eine anschließende Carbonisierung einschließt, gekennzeichnet ist. Ein Oxidieren des Kohlenstoffs und eine Sinterung des Kalziumphosphats komplettiert den Herstellungsprozeß.

Wird dem Kalziumphosphat ein sublimierbares Material bestimmter Körnung zugesetzt, so ist auch eine definierte Porenstruktur zu erreichen (U. S. Patent 4 654 614; 1987).

Organische Fasern mit einem Durchmesser von 1–30 µm, die im Verlauf des Prozesses zersetzt werden, erzeugen für das Einwachsen des Knochengewebes günstige Strukturen

(U.S. Patent 4 654 614; 1987).

Um den Prozeß des Knochenremodeling unter Einbeziehung des Knochenersatzmaterials zu optimieren, besteht die Aufgabe, eine optimale Porenstruktur zu schaffen.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein hochporöses Knochenersatzmaterial herzustellen, in dem sich in vivo und auch bei Bedarf schon in vitro Knochengewebe bildet und das vollständig resorbierbar ist, d. h. das den Remodelierungsprozeß unterstützt. Es besteht die Aufgabe, den Feststoffgehalt zu minimieren und die Porenstruktur dem Prozeß des Knochenremodelings anzupassen.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Verfahren zur Herstellung eines hochporösen Knochenersatzmaterials gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine hochviskose Suspension bestehend aus einem Sol eines oder mehrere Oxide der Elemente X (X = Al, Ca, Mg, P, Si, Ti, Zr), versetzt mit einem kristallinen Pulver, durch eine Düse oder eine Düsensystem gedrückt und anschließend in eine beliebige Form gebracht wird, so daß durch die Packung der Fäden aus der hochviskosen Suspension, deren Viskosität ein Verlaufen des Materials verhindert, eine offene Porenstruktur im Größenbereich der Fädendurchmesser entsteht, die Fäden sich aber durch den noch nicht abgeschlossenen Gelübergang an den Berührungsstellen verbinden.

Zur Herstellung der hochviskosen Suspension wird Kalziumphosphatpulver oder -granulat, das durch die verwendete Komponente, die Korngrößenverteilung, die Morphologie, den Kristallinitätsgrad und vorhandene Gitterdefekte variiert ist, mit einem Sol eines oder mehrerer Oxide des Elementes X (X = Al, Ca, Mg, P, Si, Ti, Zr) möglichst homogen vermischt.

Anschließend wird das Gemisch in einen Behälter so gefüllt, daß sich keine Luft in dem geschlossenen Behälter befindet und der Behälter wird um eine horizontale Achse gedreht, um ein Absinken der schwereren Feststoffanteile zu verhindern.

Der Durchmesser der Düse bzw. der Düsen liegt vorzugsweise im Bereich von 50 µm bis 1000 µm, wobei mit 200 µm eine Werte erreicht wird, der dem Durchmesser der Trabekel im Knochen entspricht und technisch gut zu realisieren ist.

Die durch die Düsen oder das Düsensystem entstehenden Fäden aus der hochviskosen Suspension werden derart in die beliebige Form, wie Zylinder, Hohlzylinder oder Kugelschalensegment gedrückt, daß die durch die Packung der Fäden determinierten Poren einen bestimmten Volumenanteil von bevorzugt 50% erhalten und eine Verbindung der sich berührenden Fäden gewährleistet ist.

Die Viskosität der die Fäden bildenden Suspension darf nicht so niedrig sein, daß die Fäden ineinander verlaufen.

Gegebenenfalls, insbesondere wenn sehr dünne Fäden hergestellt werden sollen, kann es notwendig sein, die Viskosität nach passieren der Düse bzw. der Düsen zu erhöhen, um zum einen ein Verstopfen der Düsen zu verhindern (geringere Viskosität) und zum anderen ein Verlaufen der Fäden zu vermeiden (höhere Viskosität).

Das wird dadurch erreicht, daß der Suspension nach Verlassen der Düse(n) schnell Lösungsmittel entzogen wird. Das kann durch eine schnelle Temperaturerhöhung und bzw. oder durch eine Verringerung des Partialdruckes des Lösungsmittels erfolgen. Am einfachsten erweist es sich, die Fadenpackung mit heißer trockener Luft zu spülen.

Vor dem Trocknen des Formkörpers erfolgt ein Altern der Gelstruktur. Eine gesättigte Lösungsmittelatmosphäre verhindert das vorzeitige Trocknen.

Das Trocknen wird anschließend bei einer Temperatur von bevorzugt 90–150°C 2 Stunden lang durchgeführt. Das

Gel bleibt dann in einem nanoporösen Zustand, was die Resorption erleichtert. Soll die Festigkeit erhöht werden erfolgt eine Temperaturbehandlung in einem Bereich zwischen 600°C und 800°C.

Nach dem Trocknen erfolgt ein Puffern des hochporösen Formkörpers bevorzugt mit Phosphatpuffer bei pH 7,2.

Der danach erforderliche Trocknungsprozeß wird mit einer Sterilisation verbunden.

#### Beispiel 1

60 ml Tetraethoxysilan werden unter Rühren 18 ml Wasser und 18 ml Salzsäure Masslösung zugegeben.

Nach der Hydrolyse wird diesem Ansatz ca. 60 g Hydroxylapatit und 40 g  $\beta$  Trikalziumphosphat zugegeben. Diese Suspension wird in einem geschlossenen zu 100% gefüllten Gefäß um eine horizontale Achse gedreht, um eine Ablagerung der Phosphate am Boden zu verhindern.

Nach 2 Stunden ist die Viskosität so hoch, daß das Sol durch eine Düse mit 1 mm Durchmesser gedrückt wird und stabile Fäden erzeugt, die als zufällige Packung in eine rechteckige Form gebracht werden, daß die Fäden ca. 50% Raumauffüllung ergeben.

Die Probe wird nun 12 h im Exikator bei gesättigtem Ethanoldampf gelagert. Anschließend erfolgt eine Trocknung bei 120°C 2 h in einem Ofen.

Nach dem Trocknungsprozeß wird mittels Phosphatpuffer ein pH-Wert von 7,2 eingestellt.

Die Proben werden an der Luft getrocknet, später bei 200°C (Aufheizrate: 1°C/min; Dauer: 3 Stunden) getrocknet und sterilisiert.

Die Tierexperimente wurden mit Göttinger Minischweinen (ausgewachsen, ca. 60 kg schwer) durchgeführt. Dabei wurde ein ca. 5 cm<sup>3</sup> großer Defekt im Unterkiefer gesetzt und mit dem Material gefüllt. Nach fünf Wochen wurden die Schweine getötet, um das Anfangsstadium der Regeneration des Defekts auszuwerten. Eine lichtmikroskopische Abbildung eines histologischen Schnitts ist in **Abb. 1** dargestellt. Es ist ein extrem schnelles Wachstum des Knochens (einschließlich von Blutgefäßen) in den Poren des Knochenersatzmaterials und eine Resorption des Materials zu erkennen.

#### Beispiel 2

60 ml Tetraethoxysilan werden unter Rühren 18 ml Wasser und 18 ml Salzsäure Masslösung zugegeben.

Nach der Hydrolyse wird diesem Ansatz ca. 40 g Hydroxylapatit zugegeben. Diese Suspension wird in einem geschlossenen zu 100% gefüllten Gefäß um eine horizontale Achse gedreht, um eine Ablagerung der Phosphate am Boden zu verhindern.

Nach 2 Stunden ist die Viskosität so hoch, daß das Sol durch eine Düse mit 0,2 mm Durchmesser gedrückt wird und stabile Fäden erzeugt, die als zufällige Packung in eine rechteckige Form gebracht werden, daß die Fäden ca. 50% Raumauffüllung ergeben.

Die Probe wird nun 12 h im Exikator bei gesättigtem Ethanoldampf gelagert. Anschließend erfolgt eine Trocknung bei 120°C 2 h in einem Ofen.

#### Patentansprüche

1. Ein Verfahren einen hochporösen Festkörper herzustellen, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine hochviskose Suspension eines Sols eines oder mehrerer Oxide der Elemente X (X = Al, Ca, Mg, P, Si, Ti, Zr), versetzt mit einem kristallinen Pulver, durch eine Düse oder

eine Düsensystem gedrückt und anschließend in eine beliebige Form gebracht wird, so daß durch die Packung der Fäden aus der hochviskosen Suspension, deren Viskosität ein Verlaufen des Materials verhindert, eine offene Porenstruktur im Größenbereich der Fädendurchmesser entsteht.

2. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Viskosität der Suspension nach dem Verlassen der Düse oder des Düsensystems vergrößert wird und damit ein Verlaufen der Fäden in der Form verhindert wird.

3. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1 und 2 dadurch gekennzeichnet, daß durch eine schnelle Erhöhung der Temperatur der Fäden aus der hochviskosen Suspension nach dem Verlassen der Düse oder des Düsensystems Lösungsmittel verdampft und die Viskosität des Sols steigt.

4. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, 2, und 3 dadurch gekennzeichnet, daß durch eine schnelle Verringerung des Partialdrucks des Lösungsmittels der Suspension nach dem Verlassen der Düse oder des Düsensystems Lösungsmittel verdampft und die Viskosität der Suspension steigt.

5. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, 2, 3 und 4 dadurch gekennzeichnet, daß die Fäden derart in die Form gepreßt werden, daß die durch die Packung der Fäden entstandenen Poren den gewünschten Volumenanteil am Formkörper besitzen.

6. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, 2, 3, 4 und 5 dadurch gekennzeichnet, daß das Material vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 90°C bis 200°C getrocknet wird.

7. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, 2, 3, 4, 5 und 6 dadurch gekennzeichnet, daß das Material zur Erhöhung der Festigkeit vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 600°C bis 1000°C temperaturbehandelt wird.

8. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 dadurch gekennzeichnet, daß das Material vorzugsweise mit einem Phosphatpuffer mit pH 7,2 gepuffert wird.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

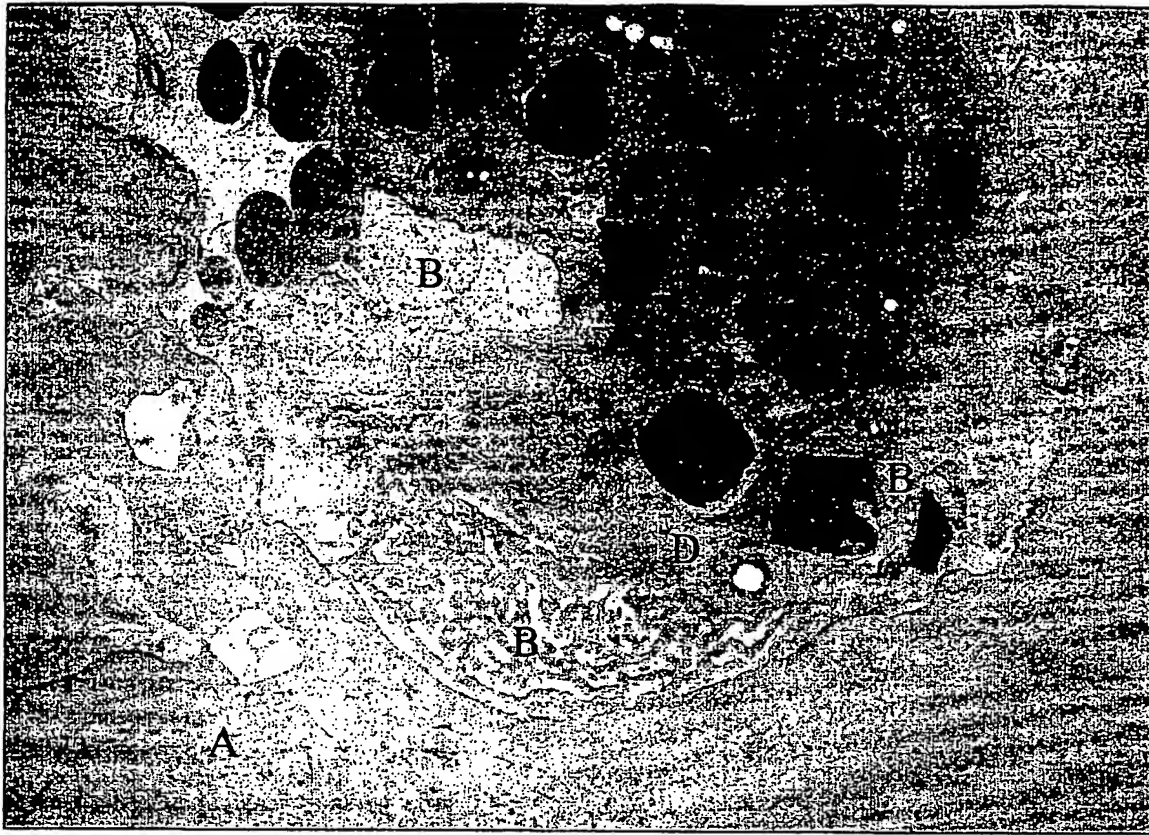


Abbildung 1: Histologischer Schnitt des mit dem Knochenersatzmaterial gefüllten Knochendefekts 5 Wochen nach Implantation

A- Knochen des Unterkiefers

B - neugebildeter Knochen

C - Reste des Knochenersatzmaterials. Die ursprünglich fadenförmige Struktur hat sich durch Resorption stark verändert.

D - Blutgefäße in den Poren des Materials.